



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenl gungsschrift**
⑩ **DE 41 32 345 A 1**

⑤1 Int. Cl.⁵:
A 61 K 31/685
A 61 K 31/66
A 61 K 9/133

⑳1 Aktenzeichen: P 41 32 345.9
㉔2 Anmeldetag: 27. 9. 91
㉔3 Offenlegungstag: 1. 4. 93

4

DE 41 32 345 A 1

㉔1 Anmelder:

Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der
Wissenschaften eV, 3400 Göttingen, DE

㉔4 Vertreter:

Weickmann, H., Dipl.-Ing.; Fincke, K., Dipl.-Phys.
Dr.; Weickmann, F., Dipl.-Ing.; Huber, B.,
Dipl.-Chem.; Liska, H., Dipl.-Ing. Dr.-Ing.; Prechtel,
J., Dipl.-Phys. Dr.rer.nat.; Böhm, B., Dipl.-Chem.Un-
iv.
Dr.rer.nat., Pat.-Anwälte, 8000 München

㉔2 Erfinder:

Eibl, Hansjörg, Prof. Dr., 3406 Bovenden, DE;
Kaufmann-Kolle, Petra, Dr., 3407 Gleichen, DE;
Unger, Clemens, 3400 Göttingen, DE

㉔54 Ether-Lysolecithine und Alkylphosphocholine in Liposomen

㉔57 Eine Arzneimittelzusammensetzung, die insbesondere für
die intravenöse Verabreichung lytischer Wirkstoffe geeignet
ist, liegt in Form von unilamellaren Liposomen vor, und
besteht aus

a) einem Wirkstoff der allgemeinen Formel I
R-X-O-PC

in der

R = einen Alkyl-, cis oder trans-Alkenyl- oder Alkynyl-mit je
16 bis 20 C-Atomen,

PC den Phosphocholinrest oder einen modifizierten
Phosphocholinrest und

X eine Einfachbindung oder einen 1-Glyceryltherrest oder
1-Glycerylthioetherrest, welcher R in Position 1 und PC in
Position 2 oder 3, sowie Methoxy in der nicht mit PC
besetzten Position aufweist oder den 2-Methoxyl-2-Methyl-
entetrahydrofuranylest bedeuten

b) Cholesterin und

c) wenigstens einem Lipid mit positiver oder negativer
Oberflächenladung.

DE 41 32 345 A 1

Beschreibung

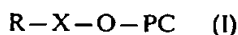
Die Erfindung betrifft eine Arzneimittelzusammensetzung die sich für die Verabreichung lytischer Wirkstoffe — peroral, intramuskulär, subkutan, intraperitoneal, durch Inhalation, insbesondere aber intravenös — eignet, deren Herstellung und Verwendung.

Lysolecithine und deren Analoge sind interessante pharmakologisch wirksame Substanzen, deren lytische Eigenschaften je doch bei intravenöser Applikation hämolytische und gewebsnektrotische Begleiterscheinungen hervorrufen, so daß sich diese Applikationsart in der Regel verbietet.

Aufgabe der Erfindung ist daher die Schaffung einer Arzneistoffzusammensetzung, welche die Verabreichung lytisch wirksamer Arzneistoffe oder Pharmaka möglich macht, insbesondere aber im Hinblick auf eine intravenöse Applikation ohne hämolytische oder gewebsnektrotische Begleiterscheinungen. Diese Formulierung ist aber auch von Vorteil bei den weiteren, oben genannten Applikationsarten.

Gelöst wird diese Aufgabe durch eine Arzneimittelzusammensetzung, insbesondere für die intravenöse Verabreichung lytischer Wirkstoffe, aber auch von anderen Applikationsformen, welche dadurch gekennzeichnet ist, daß sie in Form von unilamellaren Liposomen vorliegt, die aus

a) einem Wirkstoff der allgemeinen Formel I



in der

R = einen Alkyl-, cis oder trans-Alkenyl- oder Alkynyl mit je 16 bis 20 C-Atomen,

PC den Phosphocholinrest oder einen modifizierten Phosphocholinrest und

X eine Einfachbindung oder einen 1-Glyceryl etherrest oder 1-Glycerylthioetherrest, welcher R in Position 1 und PC in Position 2 oder 3, sowie Methoxy in der nicht mit PC besetzten Position aufweist oder den 2-Methoxyl 2-Methylentetrahydrofuranylest bedeuten

b) Cholesterin und

c) wenigstens einem Lipid mit positiver oder negativer Oberflächenladung besteht.

Unter modifizierten Phosphocholinresten werden hierbei im Rahmen der Erfindung Reste verstanden, wie sie aus den beigefügten Beispielen zu ersehen sind.

Von Bangham et al., J. Mol. Bio. 13 (1965) 238—252, wurde beobachtet, daß Phospholipide in Gegenwart von Wasser Überstrukturen ausbilden. In Abhängigkeit von physikalischen Parametern, wie Druck, Temperatur und Ionenkonzentration formen sich Mizellen, unilamellare bzw. multilamellare Liposomen oder auch einfache Lipiddoppelschichten. Liposomen lassen sich durch mechanische Feinstverteilung von Phospholipiden in Wasser herstellen. Kleine, unilamellare Liposomen sind kugelförmige Gebilde mit einem Durchmesser von 20 bis 200 nm. Ihr Innenvolumen besteht aus Wasser, das durch die Lipiddoppelschicht nach außen abgegrenzt ist. Je nach Lipophilie oder Hydrophilie können Wirkstoffe entweder in der Lipiddoppelschicht oder im wäßrigen Innenvolumen der Liposomen eingeschlossen und im Organismus über die Körperflüssigkeiten transportiert und verteilt werden.

Die durch die allgemeine Formel I definierten Wirkstoffe gehören zu den Lysolecithinen und ihren analogen Strukturen sowie zu den Alkylphosphocholinen, die insbesondere als neuartige antitumorale Wirkstoffe vorgeschlagen wurden. Sie können nicht intravenös appliziert werden aufgrund der schon erwähnten stark hämolytischen und gewebsnektrotischen Eigenschaften.

Diese lytischen Eigenschaften werden jedoch in der erfindungsgemäßen Zusammensetzung in Form von bestimmten Liposomenformulierungen massiv unterdrückt oder vollständig beseitigt, so daß über die erfindungsgemäße Zusammensetzungsform eine intravenöse Applikation möglich wird. Die Wirksamkeit der Arzneistoffe der allgemeinen Formel I als Antitumormittel wird hierbei nicht verringert, sondern lediglich ihre lytischen und gewebsnektrotischen Eigenschaften werden neutralisiert. Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen eignen sich aber auch für die orale Verabreichung und haben bei dieser Applikationsform den Vorteil, daß die manchmal beobachtete Übelkeit bei Patienten nach oraler Einnahme der Wirkstoffe in Kapselform vermieden wird.

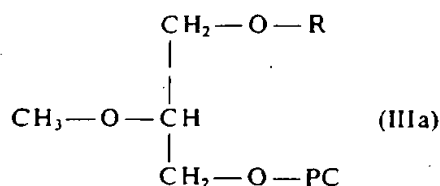
Die erfindungsgemäße Zusammensetzung besteht vorzugsweise aus 20 bis 45 Mol-% der Komponente a, also des Wirkstoffs der allgemeinen Formel I, 50 Mol-% Cholesterin als Komponente b und 30 bis 5 Mol-% der Komponente c, also des Lipids mit positiver oder negativer Oberflächenladung. Besonders bevorzugt wird eine Zusammensetzung von 38 bis 42 Mol-% a, 50 Mol-% b und 12 bis 8 Mol-% c.

In einer ersten bevorzugten Ausführungsform enthält die erfindungsgemäße Zusammensetzung als Komponente a einen Wirkstoff der allgemeinen Formel II



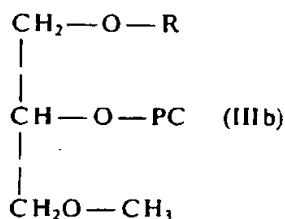
in der R einen n-Hexadexyl-, Octadecyl-, Oleyl-, Elaidyl-, Eicosyl-, Eicosenyl-cis-(ω-9)-Rest darstellt. Zu dieser Gruppe gehört beispielsweise Miltefosine (Hexadecylphosphocholin). PC kann auch einen modifizierten Phosphocholinrest bedeuten (siehe Beispiele).

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung besteht die Komponente a aus einem Alkylmethylglycerophosphocholin der allgemeinen Formel IIIa oder IIIb



5

oder IIIb



10

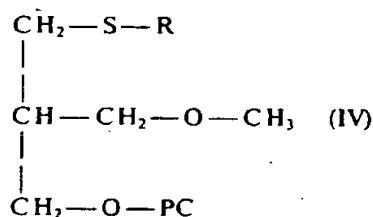
15

20

Zu diesen Verbindungen gehört z. B. Edelfosin. PC kann auch einen modifizierten Phosphocholinrest bedeuten (siehe Beispiele).

Gemäß einer dritten bevorzugten Ausführungsform besteht der Wirkstoff a aus einer Verbindung der allgemeinen Formel IV

25



30

35

Hierunter fällt Ilmofofin und strukturanaloge Verbindungen. PC kann auch einen modifizierten Phosphocholinrest bedeuten.

Für alle oben beschrieben bevorzugten Ausführungsformen gilt, daß der Rest R 16 bis 20 C-Atome aufweist, auch ungesättigt sein kann und cis-Doppelbindungen wie auch trans-Doppelbindungen enthalten kann.

40

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform der Erfindung enthält als Komponente a die Substanz (\pm) -2-(Hydroxy(tetrahydro-2-(octadecyloxy)methylfuran-2-yl)methoxyphosphinyloxy)-N,N,N-trimethylethanaminium hydroxid. Das innere Salz dieser Verbindung ist als SRI 62-834 bekannt. Der Octadecyloxyrest kann ersetzt werden durch andere n-Alkyl-, n-Alkenyl- oder n-Alkynylreste mit 16 bis 20 C-Atomen, wobei im Fall von Doppelbindungen diese wiederum cis- oder transständig sein können. Auch hier kann Phosphocholin durch einen modifizierten Phosphocholinrest ersetzt sein.

45

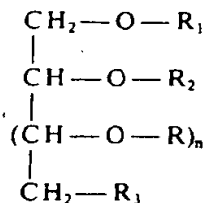
In Bezug auf Cholesterin als Komponente b der erfindungsgemäßen Zusammensetzungen gilt, daß die für Arzneimittelzwecke vorgeschriebenen Reinheitsgrade verwendet werden.

Die Komponente c, also das Lipid mit positiver oder negativer Oberflächenladung, wird, soweit sie eine negative Oberflächenladung trägt, vorzugsweise ausgewählt aus der Gruppe 1,2-Dimyristoyl-, 1,2-Dipalmitoyl und 1,2-Distearoyl-Derivate von sn-Glycero-3-phosphoglycerin, Natriumsalz, sn-Glycero-3-phosphoglykol, Natriumsalz und sn-Glycero-phosphopropandiol (1,2), Na⁺-Salz, 1,3-Dimyristoyl-, 1,3-Dipalmitoyl-, und 1,3-Distearoyl-Derivate von sn-Glycero-3-phosphopropandiol (1,3), Na-Salz:

50

Wenn die Komponente c ein Lipid mit positiver Oberflächenladung darstellt, handelt es sich vorzugsweise um eine Verbindung der allgemeinen Formel V

55



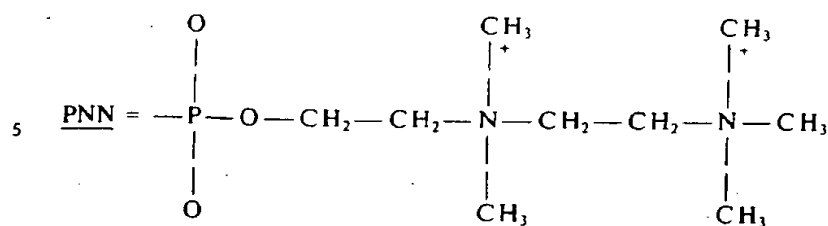
60

in der

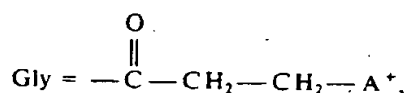
R₁ Alkoyl oder Alkyl mit je 14 bis 18 C-Atomen, Oleoyl oder Oleyl bedeutet,

R₂ die gleiche Bedeutung wie R₁ besitzt (R₁ aber nicht gleich R₂ sein muß) und außerdem PNN

65



oder Gly



worin

A = ---NH_3^+ , $\text{---NH}_2\text{CH}_3^+$, $\text{---NH}(\text{CH}_3)_2^+$, $\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$ bedeuten kann,

R₃ = ---O---R_1 , ---O---PNN , ---O---Gly , NH_3^+ , NH_2CH_3^+ , $\text{NH}(\text{CH}_3)_2^+$ oder $\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$ bedeutet,

R eine der für R₁, R₂ oder R₃ angegebenen Bedeutungen besitzt, und

n eine ganze Zahl von 0 bis 3 bedeutet, mit der Maßgabe, daß das Molekül eine der genannten Gruppen mit positiver Ladung enthält.

Bevorzugte Beispiele von Verbindungen der allgemeinen Formel V im Rahmen der Erfindung sind

- 1) 1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phospho-(N,N-dimethyl-N-[N',N',N'-trimethyl-ethylammonio])-ethylammoniumchlorid.
- 2) 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phospho-(N,N-dimethyl-N-[N',N',N'-trimethyl-ethylammonio])-ethylammoniumchlorid.
- 3) 1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phospho-(N,N-dimethyl-N-[N',N',N'-trimethyl-ethylammonio])-ethylammoniumchlorid.
- 4) 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phospho-(N,N-dimethyl-N-[N',N'-dimethyl-ethylamino])-ethylammonium
- 5) 1,2-Dihexadecyl-sn-glycero-3-phospho-(N,N-dimethyl-N-[N',N',N'-trimethyl-ethylammonio])-ethylammoniumchlorid
- 6) 1,2-Dioleoyl-rac-glycero-3-phospho-(N,N-dimethyl-N-[N',N',N'-trimethyl-ethylamino])-ethylammoniumchlorid
- 7) 1,3-Dihexadecyl-glycero-2-phospho-(N,N-dimethyl-N-[N',N',N'-trimethyl-ethylammonio])-ethylammoniumchlorid
- 8) 1,3-Dioleoyl-rac-glycero-2-phospho-(N,N-dimethyl-N-[N',N',N'-trimethylamino])-ethylammoniumchlorid
- 9) 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-glycinester, Hydrochlorid
- 10) 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-N,N-dimethyl-glycinester, Hydrochlorid
- 11) 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-N,N,N-trimethyl-glycinester, Chlorid
- 12) 1,2-Dihexadecyl-sn-glycero-3-N,N,N-trimethyl-glycinester, Chlorid
- 13) 1,3-Dioleoyl-glycero-2-N,N,N-trimethyl-glycinester, Chlorid
- 14) 1,3-Dioleoyl-glycero-2-N,N,N-trimethyl-glycinester, Chlorid
- 15) 1,2-Dipalmitoyl-propandiol-(1,2)-3-aminohydrochlorid
- 16) 1,2-Dioleoyl-propandiol-(1,2)-3-N,N,N-trimethyl-ammonium-chlorid
- 17) 1,2-Dihexadecyl-propandiol-(1,2)-3-N,N,N-trimethyl-ammonium-chlorid
- 18) 1,2-Dipalmitoyl-propandiol-(1,2)-3-N,N,N-trimethyl-ammonium-chlorid
- 19) 1,2-Dipalmitoyl-propandiol-(1,2)-3-N,N-dimethylamino-hydrochlorid
- 20) 1,2-Dihexadecyl-propandiol-(1,2)-3-N,N-dimethyl-N-hydroxyethyl-ammonium-chlorid
- 21) 1,2-Dioleoyl-propandiol-(1,2)-3-N,N-dimethyl-N-hydroxyethylammonium-chlorid
- 22) 1,2-Dioleoyl-propandiol-(1,3)-3-N,N-dimethyl-N-hydroxyethylammonium-chlorid

Die erfindungsgemäßen Wirkstoff-Liposomen sind galenisch-technologisch stabil, physiologisch ausgezeichnet verträglich und für die verschiedenen Applikationsformen, wie z. B. peroral, intramuskulär, subkutan, intraperitoneal, durch Inhalation, insbesondere aber für eine intravenöse Anwendung, geeignet. Diese Wirkstoffe sind in der erfindungsgemäßen Zusammensetzung integrale Bestandteile der Liposomenmembran. Die Formulierung ist wasserlöslich und mit Wasser oder physiologisch verträglichen Pufferlösungen beliebig verdünnbar. Die Wirkstoff-Formulierung kann auch lyophilisiert in trockener Form aufbewahrt werden und vor der Verwendung in Pufferlösungen in der gewünschten Konzentration aufgenommen werden.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Arzneimittelzusammensetzung erfolgt, indem man die Komponenten a, b und c in einem organischen Lösungsmittel löst, das Lösungsmittel entfernt, den verbleibenden Lipidfilm in einer wäßrigen Pufferlösung suspendiert und die erhaltene Suspension in Liposomen überführt.

Geeignete Lösungsmittel sind beispielsweise CH_2Cl_2 , CHCl_3 und 2-Propanol. Beispielsweise wird Hexadecyl-

phosphocholin, Cholin und 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoglycerin (DPPG) in CH_2Cl_2 zweckmäßig unter Erwärmen gelöst, wobei eine homogene Vermischung der Komponenten erfolgt. Das Lösungsmittel kann dann im Vakuum entfernt und der verbleibende feinverteilte Lipidfilm mit einer physiologisch verträglichen wäßrigen Pufferlösung versetzt werden. Anschließend wird das Gemisch unter Bildung einer Suspension eine Stunde lang unter Rotation bei ca. 40°C gehalten.

In der anschließenden eigentlichen Präparation der Liposomen kann an sich jede der bisher in der Literatur beschriebenen Methoden eingesetzt werden. Derartige Methoden lassen sich beispielsweise aus F. Szoka und D. Papahadjopoulos, *Liposomes: Preparation and characterization*, 51—104 entnehmen. Gemäß der von uns bevorzugten Herstellungsweise wird eine French Press (Fa. Aminco, Silver Spring/USA) verwendet. Dazu wird die wie oben beschrieben erhaltene vorgetemperte Lipid-Suspension in die Druckzelle der French Press überführt. Nach Verschließen der Druckzelle wird ein entsprechender Druck, beispielsweise 140 MPa angelegt und die Liposomendispersion unter konstantem Druck durch einen schmalen Auslaß gepreßt. Dieser Vorgang wird zweckmäßig mindestens dreimal wiederholt. Danach wird die Liposomendispersion zentrifugiert (z. B. 30 Minuten bei 27 000 g und 5°C) und der Überstand vom Sediment abgehoben. Der Überstand enthält die fertigen Liposomen.

Die erfindungsgemäße Wirkstoff-Formulierung in Form von Liposomen kann auch noch in ihrem Innenraum weitere Wirkstoffe inkorporiert enthalten, wie diese in der Patentanmeldung P 40 13 6329 "Liposomen mit positiver Überschußladung" vom 27. April 1990 genannt sind. Auch Allergene sind mit Erfolg in diese Liposomen eingeschlossen worden.

Die oben erwähnten Phospholipide mit negativer Oberflächenladung können durch Umesterung aus den entsprechenden handelsüblichen Lecithinen hergestellt werden. Ein geeignetes Umesterungsverfahren ist beispielsweise beschrieben durch S. Kovatchev und H. Eibl in: *Enzymes of Lipid Metabolism* (Eds.: Sh. Gatt, L. Freysz and p. Mandel), Plenum Publ.Corp. 1978, S. 221—226.

Die erfindungsgemäße Arzneimittelzubereitung eignet sich im besonderen Maße zur Behandlung von Tumoren, Multipler Sklerose, Mykosen, Protozoenerkrankungen, insbesondere Leishmaniasis und Malaria, Autoimmunerkrankungen, Knochenmarksschädigungen nach Therapie mit Zytostatika oder anderen knochenmarksschädigenden Wirkstoffen und rheumatischer Beschwerden.

Dabei gelingt es mit dem erfindungsgemäßen Arzneimittel sogar, erstmals vollständige Heilung bei Leishmaniasis zu erzielen. An dieser Krankheit leiden ca. 12 Millionen Menschen bei mehr als 400 000 Neuerkrankungen pro Jahr, wobei 350 Millionen Menschen in 80 Ländern dieser Infektion exponiert sind (WHO 1990).

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung weiter.

Beispiel 1

Hexadecylphosphocholin (12 mmol), Cholesterin (15 mmol) und DPPG (3 mmol) werden in 200 ml 2-Propanol unter Erwärmen gelöst. Dann wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und der feinverteilte Lipidfilm mit 300 ml Phosphatpufferlösung, pH 7,4 versetzt. Anschließend wird das Gemisch unter langsamer Rotation 60 Minuten bei 40°C gehalten.

Anschließend wird die erhaltene Lipidsuspension in die Druckzelle der French Press überführt und bei 140 MPa ausgepreßt und dieser Vorgang dreimal wiederholt. Die gebildete Liposomendispersion wird dann 30 Minuten bei 27 000 g und 5°C zentrifugiert und der Überstand gewonnen.

Beispiel 2

Methylnitroharnstoff-induzierte Mammarkarzinome in der Ratte werden mit dem gemäß Beispiel 1 hergestellten Liposomenpräparat in einer Menge, die 30 µmol der Komponente a (Hexadecylphosphocholin) pro kg Ratte als Tagesdosis entspricht. Nach 4 Wochen werden die Tumorgewichte der Kontrolltiere auf 100% gesetzt. Dieser Wert entspricht ungehindertem Tumorstadium. Die Tumortiere in der behandelten Gruppen erreichen Werte zwischen 0 und 100% im Vergleich zur Kontrollgruppe, wie in der nachstehenden Tabelle 1 angegeben.

Tabelle 1

Wirkstoffe	Tumorgewichte (in % bezogen auf die Kontrolle)	
Miltefosine	als freier Wirkstoff	oral < 20% i. v. — *)
	in Liposomen	oral < 20% i. v. < 10%
Edelfosine	als freier Wirkstoff	oral 50—70% i. v. — *)
	in Liposomen	oral 50—70% i. v. < 30%

*) Applikation nicht möglich, da hämolytisch

Tierexperimentelle Daten für die im Phosphocholinrest modifizierten Verbindungen zeigten gleiche Wirksamkeiten.

Beispiel 3

3a) Beispiele für Wirkstoffe

Als Wirkstoffe wurden folgende Verbindungen der allgemeinen Formel II eingesetzt:

10 R—O—PC

- 1) Hexadecylphosphocholin
C₂₁H₄₆NO₄P, MG 407,576
- 2) Hexadecylphospho-(N-ethyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
- 15 3) Hexadecylphospho-(N-cyclopropyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
C₂₂H₄₈NO₄P, MG 421,603
- 4) Hexadecylphospho-(N-cyclobutyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
C₂₃H₄₈NO₄P, MG 433,614
- 5) Hexadecylphospho-(N-cyclopentyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
C₂₄H₅₀NO₄P, MG 447,641
- 20 6) Hexadecylphospho-(N,N-dimethyl-N-hydroxyethyl)-ethanolamin
C₂₅H₅₂NO₄P, MG 461,668
- 7) Hexadecylphospho-(N-methyl)-pyrrolidino-ethylester
C₂₂H₄₈NO₅P, MG 437,602
- 25 8) Octadecylphosphocholin
C₂₃H₄₈NO₄P, MG 433,614
- 9) Octadecylphospho-(N-ethyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
C₂₃H₅₀NO₄P, MG 435,630
- 10) Octadecylphospho-(N,N-diethyl-N-methyl)-ethanolamin
C₂₄H₅₂NO₄P, MG 449,657
- 30 11) Octadecylphospho-(N-cyclopropyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
C₂₅H₅₄NO₄P, MG 463,684
- 12) Octadecylphospho-(N-cyclobutyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
C₂₆H₅₆NO₄P, MG 475,695
- 35 13) Octadecylphospho-(N-cyclopentyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
C₂₇H₅₈NO₄P, MG 489,722
- 14) Octadecylphospho-(N,N-dimethyl-N-hydroxyethyl)-ethanolamin
C₂₈H₆₀NO₅P, MG 465,656
- 40 15) Octadecylphospho-(N-methyl)-pyrrolidino-ethylester
C₂₅H₅₂NO₄P, MG 461,668
- 16) Oleylphosphocholin
C₂₃H₄₆NO₄P, MG 433,614
- 17) Oleylphospho-(N-ethyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
C₂₄H₅₀NO₄P, MG 447,641
- 45 18) Oleylphospho-(N,N-diethyl-N-methyl)-ethanolamin
C₂₅H₅₂NO₄P, MG 461,668
- 19) Oleylphospho-(N-cyclopropyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
C₂₆H₅₄NO₄P, MG 459,652
- 20) Oleylphospho-(N-cyclopentyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
C₂₇H₅₆NO₄P, MG 487,706
- 21) Oleylphospho-(N,N-dimethyl-N-hydroxyethyl)-ethanolamin
C₂₈H₅₈NO₅P, MG 463,640
- 22) Oleylphospho-(N-methyl)-pyrrolidino-ethylester
C₂₅H₅₀NO₄P, MG 459,652
- 55 23) Elaidylphosphocholin
C₂₃H₄₈NO₄P, MG 433,614
- 24) Elaidylphospho-(N-ethyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
C₂₄H₅₀NO₄P, MG 447,641
- 25) Elaidylphospho-(N-cyclopropyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
C₂₅H₅₂NO₄P, MG 459,652
- 26) Elaidylphospho-(N,N-dimethyl-N-hydroxyethyl)-ethanolamin
C₂₆H₅₄NO₅P, MG 463,640
- 27) Elaidylphospho-(N-methyl)-pyrrolidino-ethylester
C₂₅H₅₀NO₄P, MG 459,652
- 65 28) Eicosylphosphocholin
C₂₅H₅₄NO₄P, MG 463,684
- 29) Eicosylphospho-(N-ethyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin

- C₂₆H₅₆NO₄P, MG 477,711
 30) Eicosylphospho-(N,N-diethyl-N-methyl)-ethanolamin
 C₂₇H₅₄NO₄P, MG 491,738
 31) Eicosylphospho-(N-cyclopropyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
 C₂₇H₅₆NO₄P, MG 489,722 5
 32) Eicosylphospho-(N,N-dimethyl-N-hydroxyethyl)-ethanolamin
 C₂₆H₅₆NO₅P, MG 493,710
 33) Eicosylphospho-(N,N-dihydroxyethyl-N-methyl)-ethanolamin
 C₂₇H₅₈NO₆P, MG 523,736
 34) Eicosylphospho-(N-methyl)-pyrrolidino-ethylester
 C₂₇H₅₆NO₄P, MG 489,722 10
 35) Eicosenyl-cis-(—9)-phosphocholin
 C₂₅H₅₂NO₄P, MG 461,668
 36) Eicosenyl-cis-(—9)-phospho-(N-ethyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
 C₂₆H₅₄NO₄P, MG 475,695 15
 36) Eicosenyl-cis-(—9)-phospho-(N-cyclopropyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
 C₂₇H₅₄NO₄P, MG 487,706
 37) Eicosenyl-cis-(—9)-phospho-(N,N-dimethyl-N-hydroxyethyl)-ethanolamin
 C₂₆H₅₄NO₅P, MG 491,694 20

Die hier genannten Wirkstoffe wurden synthetisiert nach Methoden, wie sie z. B. in DE 27 52 125.1, DE 36 41 379.8, DE 36 41 491.3, DE 40 13 632.9, DE 36 41 377.1, der darin zitierten Literatur oder in früheren Patentanmeldungen und -schriften der gleichen Anmelderin beschrieben sind.

3b) Wirkstoffe der allgemeinen Formel IIIa oder b

- 38) 1-Octadecyl-2-methyl-rac-glycero-3-phosphocholin
 C₂₇H₅₈NO₆P, MG 523,736
 39) 1-Octadecyl-2-methyl-rac-glycero-3-phospho-(N-ethyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
 C₂₈H₆₀NO₆P, MG 537,763 30
 40) 1-Octadecyl-2-methyl-rac-glycero-3-phospho-(N,N-diethyl-N-methyl)-ethanolamin
 C₂₉H₆₂NO₆P, MG 551,790
 41) 1-Octadecyl-2-methyl-rac-glycero-3-phospho-(N-cyclopropyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin
 C₂₉H₆₀NO₆P, MG 549,774
 42) 1-Octadecyl-2-methyl-rac-glycero-3-phospho-(N,N-dimethyl-N-hydroxyethyl)-ethanolamin
 C₂₈H₆₀NO₇P, MG 553,762 35
 43) 1-Octadecyl-2-methyl-rac-glycero-3-phospho-(N-methyl)-pyrrolidino-ethylester
 C₂₉H₆₀NO₆P, MG 549,774
 44) 1-Oleyl-2-methyl-rac-glycero-3-phosphocholin
 C₂₇H₅₆NO₆P, MG 521,720 40
 45) 1-Elaidyl-2-methyl-rac-glycero-3-phosphocholin
 C₂₇H₅₆NO₆P, MG 521,720
 46) 1-Eicosyl-2-methyl-rac-glycero-3-phosphocholin
 C₂₉H₆₂NO₆P, MG 551,790
 47) 1-Octadecyl-3-methyl-rac-glycero-2-phosphocholin
 C₂₇H₅₈NO₆P, MG 523,736 45
 48) 1-Oleyl-3-methyl-rac-glycero-2-phosphocholin
 C₂₇H₅₆NO₆P, MG 521,720

Auch diese Wirkstoffe wurden nach Verfahren synthetisiert, die in den unter 3a) zitierten Patentanmeldungen, -schriften und der dort zitierten Literatur beschrieben sind. 50

3c) Wirkstoffe der allgemeinen Formel IV

Diese Wirkstoffe wurden nach Bosies et al. hergestellt (Lipids, 22 (1987) 947 — 951). Der Alkohol wurde jedoch nach Phosphorylierungsmethoden wie unter 3a) zitiert phosphoryliert und weiter umgesetzt. 55

- 49) 3-Hexadecylmercapto-2-methoxymethylpropyl-2'-(N,N,N-trimethyl)-ammonio-ethylphosphat
 C₂₆H₅₆NO₅PS, MG 525,770
 50) 3-Hexadecylmercapto-2-methoxymethylpropyl-2'-(N-ethyl-N,N-dimethyl)-ammonio-ethylphosphat
 C₂₇H₅₈NO₅PS, MG 539,797 60
 51) 3-Hexadecylmercapto-2-methoxymethylpropyl-2'-(N-cyclopropyl-N,N-dimethyl)-ammonio-ethylphosphat
 C₂₈H₅₈NO₅PS, MG 551,808
 52) 3-Hexadecylmercapto-2-methoxymethylpropyl-2'-(N,N-dimethyl-N-hydroxyethyl)-ammonio-ethylphosphat
 C₂₇H₅₈NO₆PS, MG 555,796 65
 53) 3-Octadecylmercapto-2-methoxymethylpropyl-2'-(N,N,N-trimethyl)-ammonio-ethylphosphat
 C₂₈H₆₀NO₅PS, MG 553,824

- 54) 3-Oleylmercapto-2-methoxymethylpropyl-2'-(N,N,N-trimethyl)-ammonio-ethylphosphat
 $C_{28}H_{58}NO_5PS$, MG 551,808
 55) 3-Elaidylmercapto-2-methoxymethylpropyl-2'-(N,N,N-trimethyl)-ammonio-ethylphosphat
 $C_{28}H_{58}NO_5PS$, MG 551,808
 56) 3-Eicosylmercapto-2-methoxymethylpropyl-2'-(N,N,N-trimethyl)-ammonio-ethylphosphat
 $C_{30}H_{64}NO_5PS$, MG 581,878

3d) Wirkstoffe des Typs

(\pm)-2-[Hydroxy[tetrahydro-2-(alkyl)-methylfuran-2-yl]methoxyphosphinyloxy]-N,N,N-trimethylethaniminium-hydroxid

Die Wirkstoffe wurden nach Houlikan et al. (Lipids, 22 (1987) 884—890) dargestellt. Der Alkohol als Grundkörper wurde jedoch nach Methoden, wie z. B. unter 3a) zitiert, phosphoryliert und weiter umgesetzt.

57) Hexadecyl als Alkylrest

$C_{27}H_{56}NO_6P$, MG 521,720

58) Octadecyl als Alkylrest

$C_{29}H_{60}NO_6P$, MG 549,774

59) Oleyl als Alkylrest

$C_{29}H_{58}NO_6P$, MG 547,758

60) Elaidyl als Alkylrest

$C_{29}H_{58}NO_6P$, MG 547,758

61) Eicosyl als Alkylrest

$C_{31}H_{64}NO_6P$, MG 577,828

Beispiel 4

Behandlung der Leishmaniasis

Die Tierversuche wurden nach Peters et al. durchgeführt (W. Peters, E.R. Trotter und B.L. Robinson: The experimental chemotherapy of leishmaniasis; Ann. Trop. Med. Parasitol. 74 (1980) 289—298). Am Tag 0 wurden BALB/c-Mäuse intravenös mit einer Mischung aus 10^7 Amastigoten und 10^7 Promastigoten infiziert. Nach 10 Tagen wird mit der Behandlung durch orale Verabreichung des nach Beispiel 1 erhaltenen Liposomenpräparates, welches Hexadecylphosphocholin enthält, sowie von Pentostam als Vergleichssubstanz in einer weiteren Versuchsreihe, begonnen. Nach Abschluß des Experiments werden die Tiere getötet und kleine Leber- und Milzpräparate entnommen. Nach Giemsa-Färbung werden die Parasiten unter dem Mikroskop gezählt. Zur Feststellung von Heilung werden kleine Gewebestückchen in Kultur genommen und zeitabhängig auf Parasiten geprüft. Die erhaltenen Ergebnisse und die verabreichten Dosen sind in der nachstehenden Tabelle angegeben:

Tabelle 2

Anzahl der Leishmanien in der Leber und in der Milz nach einer Therapiezeit von 3 Wochen Anzahl der Erreger (Millionen)		
	Leber	Milz
Kontrolle	$537 \cdot 10^6$	$24 \cdot 10^6$
Pentostam (5×120 mg/kg/Woche für 3 Wochen, i. v.)	$3 \cdot 10^6$	$6 \cdot 10^6$
Hexadecylphospho- cholin-Liposom (5×20 mg/kg/Woche für 3 Wochen, i. v.)	○ (Heilung)	○ (Heilung)

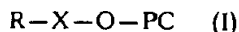
Der Effekt von Pentostam ist deutlich sichtbar in der Leber; dagegen wird die Milz kaum beeinflusst. Deshalb kann Heilung mit Pentostam kaum erreicht werden.

Die Wirkung des erfindungsgemäßen Mittels ist dagegen überzeugend. Es wird Heilung, d. h. vollkommene Eliminierung der Erreger nach 3 Wochen Therapie erreicht.

Patentansprüche

1. Arzneimittelzusammensetzung, insbesondere für die intravenöse Verabreichung lytischer Wirkstoffe, dadurch gekennzeichnet, daß sie in Form von unilamellaren Liposomen vorliegt, die aus

a) einem Wirkstoff der allgemeinen Formel I



in der

R = einen Alkyl-, cis oder trans-Alkenyl- oder Alkynyl mit je 16 bis 20 C-Atomen,

PC den Phosphocholinrest oder einen modifizierten Phosphocholinrest und

X eine Einfachbindung oder einen 1-Glyceryletherrest oder 1-Glycerylthioetherrest, welcher R in Position 1 und PC in Position 2 oder 3, sowie Methoxy in der nicht mit PC besetzten Position aufweist oder den 2-Methoxyl-2-Methylentetrahydrofuranylest bedeuten

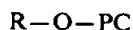
b) Cholesterin und

c) wenigstens einem Lipid mit positiver oder negativer Oberflächenladung besteht.

2. Arzneimittelzusammensetzung nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch die Zusammensetzung 20 bis 45 Mol-% a, 50 Mol-% b und 30 bis 5 Mol-% c.

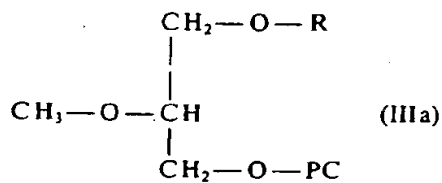
3. Arzneimittelzusammensetzung nach Anspruch 2, gekennzeichnet durch die Zusammensetzung 38 bis 42 Mol-% a, 50 Mol-% b und 12 bis 8 Mol-% c.

4. Arzneimittelzusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff a die allgemeine Formel II

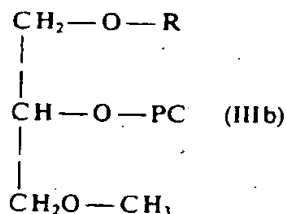


aufweist, in der R einen n-Hexadecyl-, Octadecyl, Oleyl, Elaidyl, Eicosyl oder Eicosenyl-cis-(-9)-Rest darstellt.

5. Arzneimittelzusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff a ein Alkylmethylglycerophosphocholin oder ein modifizierter Phosphocholinrest der allgemeinen Formel IIIa

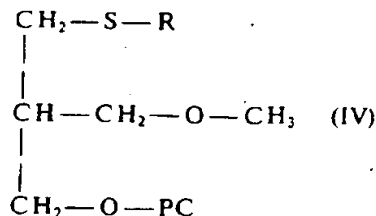


oder IIIb



ist.

6. Arzneimittelzusammensetzung nach einem Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff a eine Verbindung der allgemeinen Formel IV



ist.

7. Arzneimittelzusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff a (\pm) -2-(Hydroxy(tetrahydro-2-(octadecyloxy)methylfuran-2-yl)methoxylphosphinyloxy)-N,N,N-trimethylethanaminium hydroxid, inneres Salz, ist, der gegebenenfalls auch einen modifizierten Phosphocholinrest enthalten kann.

8. Arzneimittelzusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponente c ein Phospholipid mit negativer Oberflächenladung ist, welches ausgewählt ist aus der

Gruppe 1,2-Dimyristoyl-, 1,2-Dipalmitoyl-, und 1,2-Distearoyl-Derivate von sn-Glycero-3-phosphoglycerin-natriumsalz, sn-Glycero-3-phosphoglykolnatriumsalz und sn-Glycero-phosphopropandiol(1,2), Na⁺-Salz, 1,3-Dimyristoyl-, 1,3 Dipalmitoyl-, und 1,3 Distearoyl-Derivate von sn-Glycero-3-phosphopropandiol-(1,3), Na-Salz.

9. Arzneimittelzusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Lipid c mit positiver Oberflächenladung aus der Gruppe der in OS 40 13 632.9 beschriebenen Verbindungen ausgewählt ist.

10. Arzneimittelzusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß sie in lyophilisierter Form vorliegt.

11. Verfahren zur Herstellung einer Arzneimittelzusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß man die Komponenten a, b und c in einem organischen Lösungsmittel löst, das Lösungsmittel entfernt, den verbleibenden Lipidfilm in einer wäßrigen Pufferlösung suspendiert und die erhaltene Suspension in Liposomen überführt.

12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß man die Suspension der drei Komponenten in Liposomen überführt, in dem man sie unter einem Druck von mindestens 50 MPa, vorzugsweise mehr als 100 MPa durch eine Düse preßt.

13. Verwendung des Arzneimittels nach einem der Ansprüche 1 bis 10 zur Behandlung von Tumoren, Multipler Sklerose, Mykosen, Protozoenerkrankungen, insbesondere Leishmaniasis und Malaria, Autoimmunerkrankungen, Knochenmarksschädigungen nach Therapie mit Zytostatika oder anderen knochenmarksschädigenden Wirkstoffen und rheumatischer Beschwerden.

14. Verwendung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß eine lyophilisierte Arzneimittelzusammensetzung verwendet wird, die vor der Verabreichung in einem geeigneten Puffer aufgenommen wird.